



TITLE:

シロイヌナズナの概日時計の組織
特異的な環境応答(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

清水, 華子

CITATION:

清水, 華子. シロイヌナズナの概日時計の組織特異的な環境応答. 京都大学, 2017, 博士(生命科学)

ISSUE DATE:

2017-11-24

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.r13134>

RIGHT:

京都大学	博士（生命科学）	氏名	清水 華子
論文題目	シロイヌナズナの概日時計の組織特異的な環境応答		
(論文内容の要旨)			
<p>周期的に変化する外環境に適応するため、生体内には生物時計が備わっている。1 日周期の変化に対応するための生物時計は特に概日時計と呼ばれ、概日時計関連遺伝子のシグナル伝達経路や生理応答との関わりなどが解明されつつある。動物においては、脳の中樞時計が他の器官の末梢時計を制御していることが明らかにされており、システム全体の理解が進むことで、概日時計による生理応答の仕組みが明らかになってきた。一方で、植物の概日時計においても概日時計関連遺伝子やそのシグナル伝達経路の解明は進んでいるものの、組織レベルの視点からの知見がほとんどない。そのため、各組織の概日時計がどのようなネットワーク構造をとり、生理応答をどのように制御しているのかはよくわかっていない。器官や組織は機能の単位であり、植物の概日時計においても、これらを構成要素としたネットワーク構造があり、それによって生理応答を調節していることが予想される。そのため本研究では、概日時計と生理応答の関係を組織レベルの視点から解析することにより、植物の概日時計のネットワーク構造と生理応答の仕組みについての新しい知見を得ることを目的に、シロイヌナズナを用いて以下の研究を行った。</p> <p>第 1 章では葉の組織を高純度かつ迅速に単離する手法の確立と単離組織による組織特異的な時計遺伝子発現解析を行った。これまでの組織単離法は、時間がかかり過ぎるため、高い時間分解能が求められる時計遺伝子の発現解析には不適切であった。短時間のプロトプラスト化処理による葉肉細胞の単離法と、葉の超音波処理により維管束・表皮細胞の単離を同時に行う方法を確立し、高純度の単離組織を短時間で得ることに成功した。この手法を用いて維管束における時計遺伝子 <i>TOC1</i> の発現を様々な条件下で解析し、葉全体における発現と比較した。その結果、維管束の概日時計は、光刺激に対して他の組織とは異なる感受性を持つが、温度刺激に対する感受性は他の組織とは大きく異なることが明らかになった。さらに、この手法はイネ、コムギ、ダイズ、トマトといった他の植物種にも適用可能であることを確認した。</p> <p>第 2 章では組織特異的に概日時計の機能を障害した系統の様々な生理応答を解析することで、組織ごとの概日時計の各生理応答に対する寄与を解析した。時計遺伝子 <i>CCA1</i> の過剰発現により概日時計の機能が障害されることを用いて、組織特異的に概日時計の機能を障害した系統を作出し、これらの系統における生理応答を解析した。その結果、光周性花成については、篩部伴細胞の概日時計の機能を障害した系統でのみ長日条件による花成促進の障害が観察された。フロリゲン遺伝子 <i>FT</i> の発現量が表現型と対応して低下していたことから、篩部伴細胞の概日時計が日長を感知して <i>FT</i> 遺伝子の発現を制御し光周性花成応答をおこなっていることが明らかになった。細胞伸長については、表皮の概日時計の機能を障害した系統で胚軸伸長、葉柄伸長、子葉展開の抑制が観察された。概日時計が制御する胚軸伸長については、<i>PIF4</i> を介したシグナル伝達経路が明らかになっており、これらの系統では <i>PIF4</i> およびその下流遺伝子の発現が表現型と対応して暗期において上昇していた。しかし、花成とは異なり、胚軸伸長については日長応答性が観察されたことから、植物の概日時計のもう一つの入力刺激である温度について検討を行った。その結果、胚軸伸長および子葉展開の抑制は一定の温度域でのみ観察されることが明らかとなった。表皮の概日時計の機能を障害した系統では <i>PIF4</i> の発現が子葉および葉柄、胚軸上部で高まっていたこと、また <i>PIF4</i> の発現量の増大が表皮でのみ認められたことから、表皮の概日時計が温度を感知して細胞伸長を制御していることが示された。</p> <p>以上の結果は、維管束の概日時計は日長に対して、表皮の概日時計は温度に対して、他の組織の概日時計とは異なる感受性を持ち、それぞれ、花成と細胞伸長を制御していることを示している。先行研究で明らかになっていた、葉肉と維管束が異なる時計遺伝子発現プロファイルを持つこと、葉肉の概日時計は維管束の概日時計に従属的であることを考えあわせると、植物の概日時計は階層構造を持ちながらも独立して機能する非集中型のネットワーク構造を持ち、光と温度を異なる組織の概日時計が感知していることが示唆された。自然環境において光と温度は重要な外部刺激であり、どちらか一方の情報だけでは季節を感知できない。非集中型の概日時計ネットワークは、決まった季節に成長や花成を行う植物にとって非常に有益なシステムであると考えられる。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

動物に比べて、植物では概日時計のシステムとしての理解が遅れている。そのことを踏まえ、申請者は、概日時計と生理応答の関係を組織レベルの視点から解析することにより、各組織における概日時計がどのようにネットワークを形成しているのか、また、花成や細胞伸長といった生理応答に対してハブとなる概日時計はどの組織に存在しているのかについての新しい知見を得ることを目的として研究をおこなった。

まず、植物体地上部の代表的な器官である葉から3種類の基本的な組織(表皮、葉肉、維管束)を迅速かつ高純度に単離する方法として、短時間のプロトプラスト化処理による葉肉細胞の単離法と、葉の超音波処理による維管束と表皮細胞を同時に単離する方法を、それぞれ確立した。そして、これらの方法により時計遺伝子の発現の高時間分解能による解析が可能であることを示すとともに、維管束における時計遺伝子*TOC1*の発現解析により、維管束の概日時計は、光刺激に対して他の組織とは異なる感受性を持つが、温度刺激に対する感受性は他の組織とは大きく異なることを明らかにした。

次いで、組織(細胞タイプ)特異的に概日時計の機能を阻害した系統を用いた解析により、それぞれの組織の概日時計が光周性花成や胚軸などの細胞伸長といった生理応答の制御にどのように寄与しているかを調べた。光周性花成については、篩部伴細胞の概日時計が日長を感知してフロリゲン遺伝子*FT*の発現を制御し、長日条件に応答した花成促進をおこなっていることを明らかにした。一方、胚軸伸長については、表皮細胞の概日時計が重要であり、温度を感知して*PIF4*遺伝子の発現制御を介して細胞伸長を制御していることを明らかにした。これらのことは、維管束の概日時計は日長に対して、表皮の概日時計は温度に対して、他の組織とは異なる感受性を持ち、異なる生理応答を司ることを示している。葉肉と維管束が時計遺伝子に関して異なる発現プロファイルを持つこと、葉肉の概日時計は維管束の概日時計に従属的であることを考えあわせて、申請者は、植物の概日時計は階層構造を持ちながらも独立して機能する非集中型のネットワーク構造を持ち、光と温度を異なる組織の概日時計が感知しているというモデルを提唱した。

以上のように、本論文は植物における概日時計の組織特異的な働きと生理応答との関連に着目し、動物のそれとは異なる植物に特有のネットワーク構造を明らかにすることで、概日時計による環境応答という普遍的かつ重要な研究分野に新たな知見を与えたものであり、生命科学の進展に貢献する価値を備えている。また、本研究で用いたシロイヌナズナにとどまらず多様な植物種に適用可能な実験手法の確立をおこなったことも高い評価に値する。

本論文では、申請者の分子生物学および植物生理学に関する高度で幅広い学識と研究の実践力、および、生命科学に関する研究を独創的かつ総合的に展開する能力が示されている。また、生命科学の知識蓄積と発展に寄与する発見が論理的かつ一貫性をもって記述されている。よって、本論文は博士(生命科学)の学位論文として価値あるものと認めた。また平成29年9月1日に論文内容とそれに関連する口頭試問を行った結果、合格と認めた。

論文内容の要旨及び審査の結果の要旨は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。特許申請、雑誌掲載等の関係により、学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。(ただし、学位規則第8条の規定により、猶予期間は学位授与日から3ヶ月以内を記入すること。)

要旨公開可能日： 年 月 日